

BAP1 変異がんにおけるオートファジーの役割に関する研究

愛知県がんセンター研究所

分子腫瘍学部 主任研究員 村上（渡並） 優子

[研究の背景・目的]

遺伝子 A,B があるとき、それぞれ単独の遺伝子変異では細胞の生存に影響を及ぼさないが、両者とも変異したときに細胞死を招く場合、その二つの変異は合成致死であるという。変異の一つをがん細胞に特異的なものとした場合、もう一つの遺伝子を見つけることは、がん細胞のみを死滅させる分子標的薬の候補になる可能性がある。また、細胞死を招く分子機構を解明することにより、それぞれの遺伝子の新規機能を解明することにもつながるため、基礎医学的にも臨床医学的にも有用な戦略であると考えられる。本研究課題においてはがん抑制遺伝子 BAP1 に着目し、その変異と合成致死表現型を示す遺伝子を探索・同定した。BAP1 (BRCA1 associated protein 1) はがん抑制遺伝子であり、悪性中皮腫の約 25%、ぶどう膜黒色腫の約 45%、腎細胞がんの約 15%および乳がんや肺がん、食道がん、卵巣がんにおいて BAP1 の変異があることがわかっている。BAP1 はショウジョウバエ calypso (ユビキチン加水分解酵素) のホモログであり、polycomb repressive deubiquitinase (PR-DUB) 複合体を形成し、ヒストン H2A の脱ユビキチン化を介して転写抑制に関与する。一方、BAP1 は p53 抑制因子として知られる YY1 (Ying Yang 1)、細胞周期を制御する E2F1, p53 などの転写因子と結合し、転写を促進させるという報告もある。また、BAP1 は DNA 相同組み換え修復に関与する E3 ユビキチンリガーゼである BRCA1 (breast cancer susceptibility gene 1) や BARD1 (BRCA1 associated RING domain protein 1) と相互作用しているという報告があるが、BRCA1 を脱ユビキチン化する訳ではなく DNA 損傷応答での機能については明らかになっていない点が多い。

[研究の対象ならびに方法]

Web 上のデータ解析は、*Nat Genet* 2011 ; 43 (7) : 668-72 に掲載されたデータを用いた

(E-GEOD-29354)。

実験は主に、BAP1 変異を持つ悪性中皮腫細胞株 H28 及び H28 に BAP1 を過剰発現させた細胞株 (H28 BAP1) を用いた。H28 及び H28 BAP1 に 16,019 遺伝子に対応した 82,017 種類の shRNA が含まれるレンチウイルスを使った shRNA ライブラリー (SIGMA LentiPlex Pooled Whole Genome libraries) を感染させ、ゲノムを回収し、それぞれの細胞に含まれている shRNA 配列を次世代シーケンサー (MiSeq) で解析した。H28 BAP1 に含まれ、H28 に含まれないものを候補遺伝子とした。

[研究結果]

最初に、Web 上に公開されている悪性中皮腫患者のがん組織における発現アレイデータ及び予後データを解析した結果、BAP1 変異に対する合成致死表現型を示す候補遺伝子の一つにオートファジー因子である ATG3 が含まれていることが明らかとなった。

並行して、細胞株でのスクリーニングを行った。そこで得られた候補遺伝子の中に、オートファジーに関わる因子、ATG4A が含まれていた。

次に、オートファジー後期の阻害剤であるクロロキンを用いて、同様の表現型になるかどうかを確認したところ、H28 株がほぼ生存しない濃度において、BAP1 の過剰発現で半分程度の生存の回復が起こった。

[考察]

悪性中皮腫患者のがん組織の発現アレイデータ及び予後データからの結果、ゲノムワイドの shRNA ライブラリースクリーニングの結果から、オートファジーに関わる因子が BAP1 変異との合成致死に関与していることが示唆された。今後は、ATG3,4などをノックダウンした状態でも表現型が再現できるかどうか、また、BAP1 の変異のある／なしでオートファジーに影響するかどうか、あるいは、ATG3 のノックダウンのある／なしで DNA 損傷修復や BAP1 が制御している遺伝子の転写レベルが変化するかどうかについて調べていきたいと考えている。

[文献]

なし